PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2000-008074
(43)Date of publication of application : 11.01.2000

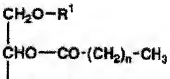
(51)Int.Cl. C11C 3/10
A23D 9/007
A23K 1/16
A23L 1/30
A61K 31/23
C07C 69/30
G01N 33/50
// C12P 7/64

(21)Application number : 10-173017
(22)Date of filing : 19.06.1998

(71)Applicant : SUNTORY LTD
(72)Inventor : AKIMOTO KENGO
YAGUCHI TOSHIAKI
FUJIKAWA SHIGEAKI

(54) NEW TRIGLYCERIDE AND COMPOSITION CONTAINING THE SAME

(57)Abstract:
PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a new triglyceride having a triglyceride structure similar to that of a component in human mother's milk and useful for preparing standardized milks for immature babies and pregnant women, etc. by introducing a specific saturated or unsaturated fatty acid recidue to the specified position of glycerol.
SOLUTION: This compound is expressed by the formula [R1 and R2 are each a 18-22C unsaturated fatty acid-originated acyl group which may be oxidized, provided that at least one of R1 and R2 is an acyl originated from an ω6, ω9 or ω3-unsaturated fatty acid; (n) is 14-16], for example, 1,3-diarachidonyl-2-palmitoyl triglyceride. The compound of the formula is obtained by allowing a lipase acting only on the 1 and 3-ester bonds of a triglyceride to act on the triglyceride in which a 16-18C fatty acid is clearly bonded to its 2-position and subsequently subjecting the product to an esterification or transesterification reaction with the ω6, ω9 or ω3-unsaturated fatty acid or its ester added to the reaction system.



(19)日本国特許庁（ＪＰ）　(12) **公開特許公報（Ａ）**　(11)特許出願公開番号
特開2000－8074
（P2000－8074A）
(43)公開日　平成12年１月11日(2000.1.11)

(51)Int.Cl.⁷	識別記号	ＦＩ		テーマコード（参考）
Ｃ１１Ｃ　3/10		Ｃ１１Ｃ　3/10		
Ａ２３Ｄ　9/007		Ａ２３Ｋ　1/16	３０１Ｈ	
Ａ２３Ｋ　1/16	３０１	Ａ２３Ｌ　1/30	Ｚ	
Ａ２３Ｌ　1/30		Ａ６１Ｋ　31/23	ＡＤＮ	
Ａ６１Ｋ　31/23	ＡＤＮ	Ｃ０７Ｃ　69/30		

審査請求　未請求　請求項の数11　ＯＬ　（全 11 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願平10－173017

(22)出願日　平成10年６月19日(1998.6.19)

(71)出願人　000001904
サントリー株式会社
大阪府大阪市北区堂島浜２丁目１番40号
(72)発明者　秋元　健吾
大阪府三島郡島本町山崎５－２－５　サントリー株式会社技術開発センター内
(72)発明者　矢口　敏昭
大阪府三島郡島本町山崎５－２－５　サントリー株式会社技術開発センター内
(72)発明者　藤川　茂昭
大阪府三島郡島本町山崎５－２－５　サントリー株式会社技術開発センター内
(74)代理人　100077517
弁理士　石田　敬　（外３名）

(54)【発明の名称】　新規なトリグリセリド及びそれを含む組成物

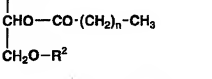
(57)【要約】
【課題】　人の母乳型のトリグリセリド構造と考えられている、トリグリセリドの２位が炭素数１６～１８の飽和脂肪酸であり、１及び３位に結合した不飽和脂肪酸の少なくともひとつがω６、ω９又はω３系不飽和脂肪酸である、構造が明確に特定されている新規なトリグリセリドおよびこの新規なトリグリセリドを含む組成物の提供。
【解決手段】　２位に炭素数１６～１８の飽和脂肪酸が結合していることが明らかになっているグリセリドを用い、１，３位のエステル結合に特異的に作用するリパーゼと、ω６、ω９又はω３系の不飽和脂肪酸または脂肪酸エステルとを作用させ、１及び３位の脂肪酸のみをエステル交換反応によって製造する。

1

【特許請求の範囲】

【請求項１】　次の一般式（Ｉ）：

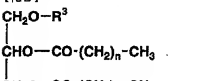
【化１】



（ここで、R^1及びR^2は、炭素数１８～２２の不飽和脂肪酸のアシル基を表し、このアシル基は酸化されていてもよく、そしてｎは１４～１６の整数を表す）で示され、R^1又はR^2の少なくともひとつはω６、ω９又はω３系不飽和脂肪酸であることを特徴とするトリグリセリド。

【請求項２】　次の一般式（ＩＩ）：

【化２】



（ここで、R^3は、炭素数１８～２２の不飽和脂肪酸のアシル基を表し、このアシル基は酸化されていてもよく、そしてｎは１４～１６の整数、ｍは２～１６の整数を表す）で示されるトリグリセリド。

【請求項３】　酸化されたアシル基がヒドロキシル化、エポキシ化又はヒドロキシエポキシド化されたアシル基であることを特徴とする請求項１または２記載のトリグリセリド。

【請求項４】　炭素数１８～２２の不飽和脂肪酸が、

9, 12-オクタデカジエン酸（リノール酸）　18：2,ω6

6, 9, 12- オクタデカトリエン酸（γ- リノレン酸）　18：3,ω6

8, 11, 14-エイコサトリエン酸（ジホモ- γ- リノレン酸）　20：3,ω6

5, 8, 11, 14- エイコサテトラエン酸（アラキドン酸）　20：4,ω6

7, 10, 13, 16-ドコサテトラエン酸　22：4,ω6

4, 7, 10, 13, 16- ドコサペンタエン酸　22：5,ω6

6, 9- オクタデカジエン酸　18：2,ω9

8, 11-エイコサジエン酸　20：2,ω9

5, 8, 11- エイコサトリエン酸（ミード酸）　20：3,ω9

9, 12, 15-オクタデカトリエン酸（α- リノレン酸）　18：3,ω3

6, 9, 12, 15- オクタデカテトラエン酸（ステアリドン酸）　18：4,ω3

11, 14, 17- エイコサトリエン酸（ジホモ- α- リノレン酸）　20：3,ω3

2

8, 11, 14, 17-エイコサテトラエン酸　20：4,ω3

5, 8, 11, 14, 17- エイコサペンタエン酸　20：5,ω3

7, 10, 13, 16, 19-ドコサペンタエン酸　22：5,ω3

4, 7, 10, 13, 16, 19- ドコサヘキサエン酸22：6,ω3

からなる群から選ばれる不飽和脂肪酸である、請求項１または２記載のトリグリセリド。

【請求項５】　次のいずれかのトリグリセリド：１，３－ジアラキドニル－２－パルミトイルトリグリセリド、１－アラキドニル－３－ドコサヘキサノイル－２－パルミトイルトリグリセリド、１－アラキドニル－３－オクタノイル－２－パルミトイルトリグリセリド、１，３－ジドコサヘキサノイル－２－パルミトイルトリグリセリド、１－（ジホモ－γ－リノレノイル）－３－ドコサヘキサノイル－２－パルミトイルトリグリセリド、１－ドコサヘキサノイル－３－オクタノイル－２－パルミトイルトリグリセリド、１－アラキドニル－３－（ジホモ－γ－リノレノイル）－２－パルミトイルトリグリセリド、１－（ジホモ－γ－リノレノイル）－３－オクタノイル－２－パルミトイルトリグリセリド、１，３－ビス（ジホモ－γ－リノレノイル）－２－パルミトイルトリグリセリド、１，３－ビス（５，８，１１－エイコサトリエノイル）－２－パルミトイルトリグリセリド、１－（５，８，１１－エイコサトリエノイル）－３－オクタノイル－２－パルミトイルトリグリセリド、１－アラキドニル－３－（５，８，１１－エイコサトリエノイル）－２－パルミトイルトリグリセリド、又は１－ドコサヘキサノイル－３－（５，８，１１－エイコサトリエノイル）－２－パルミトイルトリグリセリド。

【請求項６】　請求項１乃至５のいずれか１項に記載のトリグリセリドを特別の栄養需要に応じて配合してなる食品組成物。

【請求項７】　前記食品組成物が、機能性食品、栄養補助食品、未熟児用調製乳、乳児用調製乳、乳児用食品、妊産婦用食品又は老人用食品であることを特徴とする請求項６記載の食品組成物。

【請求項８】　請求項１乃至５のいずれか１項に記載のトリグリセリドを配合してなる動物用飼料。

【請求項９】　請求項１乃至５のいずれか１項に記載のトリグリセリドの少なくとも１種を含有し、場合により経口、腸内又は非経口投与に適した中性の担体を混合した治療用栄養製品。

【請求項１０】　請求項１乃至５のいずれか１項に記載のトリグリセリドの少なくとも１種を含有した医薬品組成物。

【請求項１１】　請求項１乃至５のいずれか１項に記載のトリグリセリドからなる分析用標準試薬。

【発明の詳細な説明】

【０００１】

【発明の属する技術分野】本発明は新しいトリグリセリドおよびそれを含む組成物に関するもので、特にトリグ

リセリドの２位に炭素数１６～１８の飽和脂肪酸を有し、１及び３位にω６、ω９及び／又はω３系の不飽和脂肪酸を有するトリグリセリドに関する。

【０００２】

【従来の技術】我々の摂取している脂質の大部分は中性脂肪であり、トリグリセリドの１，２及び３位に種々の脂肪酸がエステル結合したトリグリセリドの混合物である。そして、脂肪酸の結合位置の違いにより、その吸収性や生理活性が異なることが指摘されており、トリグリセリドの決まった位置に特定の脂肪酸を結合させた脂質（構造脂質）が、最近、特に注目されている。

【０００３】例えば、特公平4-12920 には、トリグリセリドの２位に炭素数８～１４の脂肪酸が結合し、１及び３位に炭素数が１８以上の脂肪酸が結合した消化吸収性の良いトリグリセリドが開示されている。また、２－モノグリセリドが人の生体に最も吸収され易い形態であることが知られていることから、特公平5-87497 には、２位に生理機能を有するω３又はω６系高度不飽和脂肪酸を結合させ、１及び３位に消化管の酵素により容易に加水分解される飽和脂肪酸を結合させたトリグリセリドが開示されている。しかし、これらには人の母乳中の不飽和脂肪酸及び／又は当該不飽和脂肪酸を構成脂肪酸とするトリグリセリドとの関係については開示も示唆もされていない。

【０００４】一方、脂肪酸の生理機能に目を向けると、近年、アラキドン酸及びドコサヘキサエン酸が注目されている。これら脂肪酸は、母乳中に含まれており、乳児の発育に役立つとの報告（「Advances in Polyunsaturated Fatty Acid Research 」, Elsevier Science Publishers, 1993, pp.261-264 ）や、胎児の身長や脳の発育に重要であるとの報告（Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 1073-1077 (1993), Lancet, 344, 1319-1322 (1994) ）がある。

【０００５】そして、いくつかの公的機関から推奨摂取量が公表され（未熟児：アラキドン酸60、ドコサヘキサエン酸40；正常児：アラキドン酸20、ドコサヘキサエン酸20mg/kg体重/ 日（WHO-FAO (1994)）、ヨーロッパの数カ国では既にドコサヘキサエン酸と併せて醗酵生産したアラキドン酸をトリグリセリドとして配合した未熟児用調製乳が市販されている。しかし、調製乳に加えたトリグリセリドのアラキドン酸及び／又はドコサヘキサエン酸の結合位置に関しては何ら考慮されていない。

【０００６】人の母乳中のトリグリセリド構造は、トリグリセリドの２位にパルミチン酸（16:0）が結合する割合が高く、１及び３位には高度不飽和脂肪酸あるいは中鎖脂肪酸が結合する割合が高いと推定されている（Christie, W.W. (1986) The Positional Distribution of Fatty Acids in Triglycerids. Analysis of Oils andFats in (Hamilton, R.J., and Russell, J.B., eds.) pp. 313-339, ElsevierApplied Science, London) が、

これはトリグリセリドの脂肪酸分析の結果からの類推に過ぎず、いまだ人の母乳中のトリグリセリドの単離、構造解析は行われていない。

【０００７】また、前述のように脂肪酸組成を母乳の組成に近付けるために醗酵法で生産されたアラキドン酸含有トリグリセリドが調製乳に加えられているが、このアラキドン酸含有トリグリセリドの構造は、パルミチン酸を始めとする飽和脂肪酸が１及び３位に結合し、不飽和脂肪酸は２位に結合する割合が高いもので（J.J. Myher, A. Kuksis, K. Geher, P.W. Park, and D.A Diersen-Schade, Lipids 31,207-215 (1996)）、人の母乳中のトリグリセリドの構造として推定されているものとは異なっている。

【０００８】したがって、人の母乳型トリグリセリド構造と推定されている脂質、つまり、トリグリセリドの２位に炭素数１６～１８の飽和脂肪酸が結合し、１及び３位に高度不飽和脂肪酸又は中鎖脂肪酸が結合した構造が明確に確認されている構造脂質の開発が強く望まれている。

【０００９】

【発明が解決しようとする課題】従って本発明は、トリグリセリドの２位が炭素数１６～１８の飽和脂肪酸であり、１及び３位に不飽和脂肪酸が結合し、この不飽和脂肪酸の少なくともひとつがω６、ω９又はω３系不飽和脂肪酸である新規なトリグリセリド、又はトリグリセリドの２位が炭素数１６～１８の飽和脂肪酸であり、１及び３位の一方が炭素数が４～１８の飽和脂肪酸であり、そしてもう一方がω６、ω９又はω３系不飽和脂肪酸である新規なトリグリセリドおよびこの新規なトリグリセリドを含む組成物を提供しようとするものである。

【００１０】

【課題を解決するための手段】本発明者等は上記の課題を解決するために鋭意研究した結果、２位に炭素数１６～１８の飽和脂肪酸が結合していることが明らかになっているグリセリドを用い、１，３位のエステル結合に特異的に作用するリパーゼと、ω６、ω９又はω３系の不飽和脂肪酸または脂肪酸エステルとを作用させ、１及び３位の脂肪酸のみをエステル交換反応によってω６、ω９及び／又はω３系の不飽和脂肪酸とすることによって、目的とする人の母乳型と推定されているトリグリセリドを製造することができることを見出し、さらに得られたトリグリセリドと人の母乳から得たトリグリセリドを比較することによって、人の母乳中にはトリグリセリドの２位に炭素数１６～１８の飽和脂肪酸が結合し、１及び３位に高度不飽和脂肪酸が結合した構造のトリグリセリドが間違いなく存在していることを初めて明らかにして本発明を完成した。

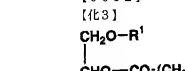
【００１１】

【発明の実施の形態】本発明は、新規なトリグリセリドと当該トリグリセリドを用いた食品組成物、動物用飼

料、治療用栄養製品、及び医薬品組成物に関する。本発明によれば、次の一般式（Ｉ）：

【００１２】

【化３】

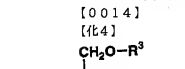


（Ｉ）

【００１３】（ここで、R^1及びR^2は、炭素数１８～２２の不飽和脂肪酸のアシル基を表し、このアシル基は酸化されていてもよく、そしてｎは１４～１６の整数を表す）で示され、R^1及びR^2の少なくともひとつはω６、ω９又はω３系不飽和脂肪酸であることを特徴とするトリグリセリド；又は次の一般式（ＩＩ）：

【００１４】

【化４】



（ＩＩ）

【００１５】（ここで、R^1は、炭素数１８～２２の不飽和脂肪酸のアシル基を表し、このアシル基は酸化されいてもよく、そしてｎは１４～１６の整数、ｍは２～１６の整数を表す）で示されるトリグリセリドが提供される。本発明で得られるトリグリセリドの１及び３位を構成する脂肪酸はω３、ω６及び／又はω９系不飽和脂肪酸からなる。具体的には、ω３系不飽和脂肪酸としては、9，12，15-オクタデカトリエン酸（α－リノレン酸）［18：3,ω３］、6,9，12，15－オクタデカテトラエン酸（ステアリドン酸）［18：4,ω３］、11,14，17－エイコサトリエン酸（ジホモ－α－リノレン酸）［20：3,ω３］、8，11，14，17-エイコサテトラエン酸［20：4,ω３］、5，8，11，14，17－エイコサペンタエン酸［20：5,ω３］、7，10，13，16，19-ドコサペンタエン酸［22：5,ω３］、4，7，10，13，16，19-ドコサヘキサエン酸［22：6,ω３］を挙げることができる。

【００１６】また、ω６系不飽和脂肪酸としては、9，12-オクタデカジエン酸（リノール酸）［18：2,ω６］、6，9，12－オクタデカトリエン酸（γ－リノレン酸）［18：3,ω６］、8，11，14-エイコサトリエン酸（ジホモ－γ－リノレン酸）［20：3,ω６］、5，8，11，14-エイコサテトラエン酸（アラキドン酸）［20：4,ω６］、7，10，13，16-ドコサテトラエン酸［22：4,ω６］、4，7，10，13，16-ドコサペンタエン酸［22：5,ω６］を挙げることができる。さらに、ω９系不飽和脂肪酸としては、6，9-オクタデカジエン酸［18：2,ω９］、8，11-エイコサジエン酸［20：2,ω９］、5，8，11-エイコサトリエン酸（ミード酸）［20：3,ω９］を挙げることができる。さらに、アシル残基はヒドロキシル化、エポキシ化又はヒドロキシエポキシ化されたアシル残基であっても構わない。

【００１７】本発明の新規なトリグリセリドの２位を構成する脂肪酸は、炭素数１６～１８の脂肪酸からなり、例えば、パルミチン酸（16：０）、ステアリン酸（18：０）を挙げることができる。本発明の新規なトリグリセリドは、２位に炭素数１６～１８の飽和脂肪酸が結合していることが明らかなトリグリセリドに、トリグリセリドの１，３位のエステル結合にのみ作用するリパーゼを作用させ、反応系に添加したω３、ω６又はω９系不飽和脂肪酸又は脂肪酸エステルとエステル交換することで製造することができる。

【００１８】２位に炭素数１６～１８の飽和脂肪酸が結合していることが明らかなトリグリセリドとしては、例えば、トリパルミチン（１，２及び３位の全てがパルミチン酸（16:0））、トリステアリン（１，２及び３位の全てがステアリン酸（18:0））を挙げることができるが、トリグリセリドにエステル結合する脂肪酸はすべて同じである必要はなく、トリグリセリドの２位に炭素数１６～１８の飽和脂肪酸が結合していれば、１及び３位には炭素数４～１８のいかなる脂肪酸が結合していてもよく、またいかなる組み合わせでも構わない。また、飽和脂肪酸を構成脂肪酸とする油脂は、その構成飽和脂肪酸の炭素数が１６以上の場合は融点が高く、反応温度を高くする必要がある。

【００１９】例えばトリパルミチンを使用する場合には、反応液組成によって異なるが反応は５０～７０℃で行わなければならない。そこで、これら融点の高いトリグリセリドを基質原料として用いるときには高い温度で反応すれば良いが、高温では酵素の失活とエステル交換のために添加した不飽和脂肪酸の変性が問題となるため、エステル交換で１及び／又は３位の脂肪酸を目的とする不飽和脂肪酸に交換する前に、原料トリグリセリドの１及び／又は３位に結合している脂肪酸を、例えばカプリル酸のような炭素数が８～１２個程度の中鎖脂肪酸又はオレイン酸、リノール酸などの融点の低い脂肪酸にエステル交換してトリグリセリドの融点を低下させ、４５℃以下の温度で反応させる方が好ましい。

【００２０】また、２位に飽和脂肪酸が結合したトリグリセリドとは、本発明の目的からして２位に炭素数１６～１８の飽和脂肪酸が結合が結合していれば、１及び３位のいずれかに、ω３，ω６又はω９系不飽和脂肪酸が結合していても構わずこれらの基質を用いた場合は不飽和脂肪酸の結合していない位置にω３，ω６又はω９系不飽和脂肪酸をエステル交換によって導入することができる。

【００２１】たとえば、２位が飽和脂肪酸で１及び３位

のいずれかに不飽和脂肪酸が結合したトリグリセリドとして、クリプテコデニウム（Cryptthecodenium）属、スラウストキトリウム（Thraustochytrium）属、シゾキトリウム（Schizochytrium）属、ウルケニア（Ulkenia）属、ジャポノキトリウム（Japonochytorium）属、ハリフォトリス（Haliphthoros）属の微生物を培養して得られた油脂が利用できる。

【００２２】これらからは、例えば１，２－ジパルミトイル－３－ドコサヘキサノイルトリグリセリドを単離することができ、このトリグリセリドを基質に１，３位特異的リパーゼを作用させ、ω３、ω６又はω９系不飽和脂肪酸もしくはその脂肪酸エステルとエステル交換させると、ドコサヘキサエン酸はエステル交換されず、１位のパルミチン酸のみが不飽和脂肪酸とエステル交換される。不飽和脂肪酸としてアラキドン酸を用いた場合には、１及び３位の一方にドコサヘキサエン酸が結合し、他方にアラキドン酸が結合し、２位にパルミチン酸が結合したトリグリセリドが製造できる。

【００２３】本発明には、トリグリセリドの１，３位特異的リパーゼを触媒として用いることができ、特に限定されるものではないが、例えば、リゾプス（Rhizopus）属、リゾムコール（Rhizomucor）属、ムコール（Mucor）属、ペニシリウム（Penicillium）属、アスペルギルス（Aspergillus）属、フミコーラ（Humicola）属、フザリウム（Fusarium）属などの微生物が生産するリパーゼ、ブタ膵臓リパーゼなどが挙げられる。かかるリパーゼについては、市販のものを用いることができる。

【００２４】例えば、リゾプス・デレマー（Rhizopus delemar）のリパーゼ（田辺製薬（株）製；タリパーゼ）、リゾムコール・ミイハイ（Rhizomucor miehei）のリパーゼ（ノボ・ノルディスク（株）製；リポザイムIM）、アスペルギルス・ニガー（Aspergillus niger）のリパーゼ（天野製薬（株）製；リパーゼA）、フミコーラ・ランギノーサ（Humicola lanuginosa）のリパーゼ（ノボ・ノルディスク（株）製；リポラーゼ）、ムコール・ジャバニカス（Mucor javanicus）のリパーゼ（天野製薬（株）製；リパーゼM）、フザリウム・ヘテロスポラム（Fusariumheterosporum）のリパーゼ等が挙げられる。これらのリパーゼの使用形態はそのままで用いても良く、また、セライトやイオン交換樹脂、セラミックス担体などに固定化したリパーゼを用いてもよい。

【００２５】本反応系に加える水分量は極めて重要で、水をまったく含まない場合はエステル交換が進行せず、また、水分量が多い場合は加水分解が起こり、トリグリセリドの回収率が低下したり、生成した部分グリセリドでは自発的なアシル基転移が起こり、２位の飽和脂肪酸が１位あるいは３位に転移する。従って、結合水を持たない固定化酵素を用いたとき、主反応を行う前に、まず、水を添加した基質を用いて酵素を活性化し、主反応では水を添加していない基質を用いると効果的である。バッチ反応で活性化するには、加えた酵素量の０～１，０００％（重量％）の水を含む基質を用いて酵素を前処理し、またカラム法で活性化するには、水飽和の基質を連続的に流すとよい。

【００２６】例えば、セライト又はセラミックス担体に固定化したリゾプス・デレマー（Rhizopus delemar）のリパーゼ（田辺製薬（株）製；タリパーゼ）を用いてバッチ反応で活性化する時の水分量は、加えた酵素量の１０～２００％（重量％）である。しかし、エステル交換反応の活性化に必要な水分量は用いる酵素の種類により大きく左右され、例えば、リゾムコール・ミイハイ（Rhizomucor miehei）のリパーゼ（ノボ・ノルディスク（株）製；リポザイムIM）であれば、ほとんど水分を必要とせず、むしろ過剰の水を除去しなければならない。過剰水の除去は主反応を妨害しないトリグリセリドを基質として選択し、これを固定化酵素で加水分解するとよい。

【００２７】バッチ反応におけるリパーゼの使用量は反応条件によって適宜決定すれば良く、特に制限されるものではないが、例えばセライトやセラミックス担体に固定化したリゾプス・デレマー（Rhizopus delemar）のリパーゼ、あるいはリゾムコール・ミイハイ（Rhizomucor miehei）のリパーゼを用いたときには、反応温液の１～３０％（重量％）が適量である。

【００２８】バッチ反応におけるエステル交換反応は、以下の方法により行う。すなわち、２位に炭素数が１６～１８の飽和脂肪酸が結合したトリグリセリドに、ω３、ω６又はω９系不飽和脂肪酸あるいはその脂肪酸エステルを加える。脂肪酸エステルとしては、例えばメチルエステル、エチルエステル、プロピルエステル、ブチルエステルなどを用いることができる。原料として用いるトリグリセリド／脂肪酸またはトリグリセリド／脂肪酸エステル比は１：０．５～２０が適量である。この基質に適当な量（通常５，０００～５０，０００U/g；ここで、リパーゼ１Uとは、オリーブ油を基質として用い、１分間に１μmolの脂肪酸を遊離させる酵素量である）の活性化または脱水した１，３位特異的リパーゼを加え、撹拌または振盪しながら２０～７０℃で２～１００時間エステル交換反応を行えばよい。

【００２９】上記固定化酵素は繰り返し使用することができる。すなわち、反応後固定化酵素だけを反応器内に残し、反応液を新たに調製した基質と交換することにより反応を継続することができる。また、カラム法によるエステル交換反応は、酵素１g当り、０．０５～２０ml/hrで基質を連続的に流すとよい。また、エステル交換反応を繰り返して行うことにより、目的のトリグリセリド含量を高めることができる。すなわち、ω３、ω６又はω９系不飽和脂肪酸もしくはその脂肪酸エステルの存在下に、トリグリセリドの１，３位特異的リパーゼを作

用させて、１及び３位の脂肪酸がω３、ω６及び／又はω９系不飽和脂肪酸にエステル交換された反応液を得る。

【００３０】次に、該反応溶液から後述する方法によりトリグリセリドを精製し、該精製トリグリセリドを原料として再度ω３、ω６又はω９系不飽和脂肪酸またはその脂肪酸エステルでエステル交換反応を行う。この繰り返しエステル化反応により目的のトリグリセリド含有量を飛躍的に高めることができ、繰り返し回数は２～５回が好ましい。

【００３１】従来の固定化リパーゼを用いたエステル交換反応では、副反応として起こる加水分解反応により生成した部分グリセリドの２位に結合していた脂肪酸のアシル基転移が誘発された。しかし、本発明では、加水分解反応をほぼ完全に抑えることができ、部分グリセリドの生成量は１％程度であり、従来の問題点を解決することができた。また、基質に含まれている水分含量が数千ppm 以下であれば、副反応として起こる加水分解を無視することができ、基質中に含まれる水分量を精密制御する必要がないという特徴を有している。

【００３２】さらに、従来の固定化酵素を用いた有機溶媒中での反応あるいは５０℃以上での反応では数回の使用で酵素活性が低下したのに対して、本発明のうち有機溶媒を含まない反応系中で４５℃以下で反応させる場合には酵素の失活が起こらず、バッチ反応で数十回以上、カラム反応で１００日以上連続して酵素を使用することも可能である。

【００３３】本発明では、基質が単純であるために、反応により得られたトリグリセリドは数種の分子種から構成される。そこで、液体クロマトグラフィー、分子蒸留、流下膜蒸留、精密蒸留などの常法あるいはその組み合わせにより、目的のトリグリセリドを容易に単離することができる。本発明で製造する反応後のトリグリセリドは、１位及び／又は３位に不飽和脂肪酸が結合したトリグリセリドであり、該トリグリセリド、未反応原料、未反応の不飽和脂肪酸または脂肪酸エステル及びエステル交換されて生じた原料のトリグリセリドの１及び／又は３位に結合していた脂肪酸または該脂肪酸エステルとの混合物として存在している。

【００３４】そこで、目的の１位及び／又は３位に不飽和脂肪酸が結合し、２位に炭素数が１６～１８の飽和脂肪酸が結合したトリグリセリドの精製は、アルカリ脱酸、水蒸気蒸留、分子蒸留、流下膜蒸留、真空精密蒸留、カラムクロマトグラフィー、溶剤抽出、膜分離のいずれか又はこれらを組み合わせることにより、上記のエステル交換された脂肪酸及び未反応の不飽和脂肪酸を除去することによって行うことができる。

【００３５】本発明で得られる、２位にパルミチン酸が結合し、１及び３位にアラキドン酸及び／又はドコサヘキサエン酸が結合したトリグリセリドは、人の母乳中のトリグリセリドの構造であると考えられることから、未熟児用調製乳、乳児用調製乳、フォローアップ乳あるいは妊産婦・授乳婦向け調製乳等に有効に使用することができる。即ち、２位にパルミチン酸が結合し、１及び３位にアラキドン酸及び／又はドコサヘキサエン酸が結合した本発明のトリグリセリドのひとつを未熟児用調製乳、乳児用調製乳、あるいはフォローアップ乳等の調製乳の製造工程において又は製品に添加することにより、より人の母乳に近い調製乳を得ることができる。

【００３６】本発明では、１位及び３位にω６系、ω９系またはω３系の同一の不飽和脂肪酸が結合したトリグリセリドが得られ、これらは人の母乳中のトリグリセリドの構造であると考えられることから、それぞれω６系、ω９系およびω３系の不飽和脂肪酸の供給源として十分に有用であるが、さらに本発明では、１位と３位にω６系、ω９系またはω３系の異なった不飽和脂肪酸が結合したトリグリセリド、例えば１位にω６系のアラキドン酸が結合し３位にω３系のドコサヘキサエン酸が結合したトリグリセリドが得られることで更に有用性が著しく増大する。即ち、例示した１位にω６系のアラキドン酸が結合し３位にω３系のドコサヘキサエン酸が結合したトリグリセリドであれば、一つのトリグリセリドでアラキドン酸（ω６系）とドコサヘキサエン酸（ω３系）の２種類の不飽和脂肪酸を同時に供給することが可能となる。

【００３７】本発明のトリグリセリドの利用として、未熟児・乳児を対象にした調製乳以外にも、例えば、牛乳、豆乳などの乳製品や、油脂を使った食品への添加が考えられる。油脂を使った食品としては、例えば、肉、魚、ナッツ等の油脂を含む天然食品、中華料理、ラーメン、スープ等の調理時に油脂を加える食品、天ぷら、フライ、油揚げ、チャーハン、ドーナッツ、カリン糖等の熱媒体として油脂を用いた食品、バター、マーガリン、マヨネーズ、ドレッシング、チョコレート、即席ラーメン、キャラメル、ビスケット、アイスクリーム等の油脂食品又は加工時に油脂を加えた食品、おかき、ハードビスケット、あんパン等の加工仕上げ時に油脂を噴霧又は塗布した食品等をあげることができる。

【００３８】この他、例えばパン、めん類、ごはん、菓子類、豆腐およびその加工食品などの農産食品、清酒、薬用酒などの醗酵食品、みりん、食酢、醤油、味噌、ドレッシング、ヨーグルト、ハム、ベーコン、ソーセージ、マヨネーズなどの畜産食品、かまぼこ、揚げ天、はんぺんなどの水産食品、果汁飲料、清涼飲料、スポーツ飲料、アルコール飲料、茶などの飲料等も挙げることができる。

【００３９】また、健康食品、機能性食品として用いる場合は、その形態は、下記医薬製剤や上記飲食品の形態でもよいが、例えば蛋白質（蛋白質源としてはアミノ酸バランスのとれた栄養価の高い乳蛋白質、大豆蛋白質、

卵アルブミン等の蛋白質が最も広く使用されるが、これらの分解物、卵白のオリゴペプチド、大豆加水分解物等の他、アミノ酸単体の混合物も使用される）、糖類、脂肪、微量元素、ビタミン類、乳化剤、香料等が配合された自然流動食、半消化態栄養食および成分栄養食や、ドリンク剤等の加工形態であってもよい。

【００４０】本発明の飲食品は、本発明のトリグリセリドを所要量加えて、一般の製造法により加工製造することができる。その配合量は剤形、食品の形態、性状により異なり、一般的には０．００１～５０％が好ましいが、特に限定されるものではない。また健康食品、機能性食品としての摂取は、本発明のトリグリセリドの１，３位に結合した高度不飽和脂肪酸の生理機能並びに力価に基づき、医師の食事箋による栄養士の管理の下に、病院給食の調理の際に、本発明の新規トリグリセリドを加え、その場で調製した機能性食品の形態で患者に与えることもできる。

【００４１】本発明のトリグリセリドを医薬品として用いる場合、投与形態は経口投与または非経口投与が都合よく行われるものであればどのような形態であってもよく、例えば注射液、輸液、散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、腸溶剤、トローチ、内用液剤、懸濁剤、乳剤、シロップ剤、外用液剤、湿布剤、点鼻剤、点耳剤、点眼剤、吸入剤、軟膏剤、ローション剤、坐剤等を挙げることができ、これらを症状に応じてそれぞれ単独で、または組み合わせて使用することができる。

【００４２】これら各種製剤は、常法に従って目的に応じて主薬に賦形剤、結合剤、防腐剤、安定剤、崩壊剤、滑沢剤、矯味剤などの医薬の製剤技術分野において通常使用しうる既知の補助剤を用いて製剤化することができる。またその投与量は、投与の目的、トリグリセリドの１，３位に結合させた脂肪酸（生理活性、力価等）や、投与対象者の状況（性別、年齢、体重等）によって異なるが、通常、成人に対して経口投与の場合、本発明の構造脂質の総量として、１日あたり０．０１mg～１０g、好ましくは０．１mg～２g、さらに好ましくは１mg～２００mgの範囲で、また非経口投与の場合、本発明の構造脂質の総量として、１日あたり０．００１mg～１g、好ましくは０．０１mg～２００mg、さらに好ましくは０．１mg～１００mgの範囲で適宜調節して投与することができる。さらに、本発明のトリグリセリドは、今まで単離あるいは合成されていなかったトリグリセリドであり、分析用標準物質として使用することができる。

【００４３】

【実施例】次に、実施例により、本発明をさらに具体的に説明する。なお、本実施例では、便宜的に脂肪酸およびトリグリセリドを次のような略号で示す。まず、脂肪酸を表わす一文字略号には次のものを用いる。８：カプリル酸、Ｐ：パルミチン酸、Ａ：アラキドン酸、Ｍ：ミード酸、Ｄ：ドコサヘキサエン酸。次に、トリグリセリドを、１位に結合している脂肪酸を表わす一文字略号、２位に結合している脂肪酸を表わす一文字略号、３位に結合している脂肪酸を表わす一文字略号により三文字で表記する。従って、トリグリセリドの構造は例えば次の例のように表記される。例：８Ｐ８（１位にカプリル酸、２位にパルミチン酸、３位にカプリル酸が結合したトリグリセリド）

【００４４】実施例１．トリパルミチン（ＰＰＰ）とカプリル酸の１：２（wt/wt）混液を基質原料として使用し、基質溶液１０．５gと固定化リゾムコール・ミイハイ（Rhizomucormiehei）リパーゼ（ノボ・ノルディスク（株）製；リポザイムIM60）１．２gからなる反応液をねじ蓋付きバイアル瓶に入れ、５０℃で４８時間振盪（１４０回／分）しながらインキュベートした。反応後、固定化酵素だけを残して反応液を新しい基質混液と交換し、同じ条件下で反応を行った。固定化酵素を繰り返し使用しながら４回反応を行い、それぞれの反応液を回収した。

【００４５】各反応液（１０．５g）に７０mlの０．５Ｎ KOH 溶液（２０％エタノール溶液）を加え、１００mlのヘキサンでグリセリド画分を抽出後、エバポレーターにより溶剤を除去してグリセリドを回収した。イヤトロスキャン（ヤトロン（株）社製）でグリセリド組成を調べた結果、１回目のグリセリド中には８％のジグリセリドが含まれていたが、２回目以降のグリセリド中の部分グリセリド含量は１％以下であった。２～４回目のグリセリド画分の脂肪酸組成（モル％）はカプリル酸４５．１％及びパルミチン酸５４．９％であった。

【００４６】カプリル酸の交換率を高めるため、２～４回目のグリセリド画分を原料として再度エステル交換した。上記の反応に使用したリポザイム IM60（１．２g）に、調製したグリセリド３．５gとカプリル酸７gを加え、３０℃で４８時間振盪しながら反応を行った（５回目）。反応後、反応液を新しい基質と交換して同じ条件下で反応を行った（６回目）。５、６回目の反応液からグリセリド画分をヘキサン抽出により回収した（合計４．８g）。得られたグリセリドの脂肪酸組成（モル％）はカプリル酸６４．２％、パルミチン酸３５．８％であった。このグリセリド中に含まれる部分グリセリドは１％以下であり、アセトン／アセトニトリル（１：１，vol/vol）を溶出溶媒としてODSカラム（Wakosil-II 3C18, 4.6 x 150mm，２本）で分析した結果、８Ｐ８の純度は９３％であった。

【００４７】得られた８Ｐ８（３．５g）とアラキドン酸（純度９０％）７gを原料とし、上記の反応に用いたリポザイム IM60 で３０℃で４８時間エステル交換反応を行い（７回目）、反応後の反応液をアルカリ条件下でヘキサン抽出し、グリセリド画分（４．８g）を得た。グリセリドの脂肪酸組成を分析したところ、カプリル酸、パルミチン酸、γ－リノレン酸及びアラキドン酸は

それぞれ３８．５、２３．１、２．４及び３４．０モル％であった。このグリセリドをアセトン／アセトニトリル（１：１，vol/vol）を溶出溶媒としてＯＤＳカラム（SH-345-5, 20 x500mm, YMC（社）製）を用いた高速液体クロマトグラフィーにより分画した結果、８ＰＡとＡＰＡがそれぞれ０．７２、０．４４ｇ得られた。

【００４８】実施例２．実施例１に記載した方法の１００倍の規模で反応を行って８Ｐ８を調製し、原料として使用した。リゾプス・デレマー（Rhizopus delemar）のリパーゼ（田辺製薬（株）製；タリパーゼ）をJ. Ferment. Bioeng., 81, 299-303 (1996) に従ってセラミックス担体 SM-10（日本ガイシ（株）製）に固定化した。固定化酵素１０ｇ（３１，０００U/g）をカラムに充填した後、水飽和の大豆油：カプリル酸１：２（wt/wt）混合液を３０℃、流速３ml/hrで１００ml流し固定化酵素を活性化した。

【００４９】次いで水を加えていない大豆油５０mlを流して過剰水を除去した後、８Ｐ８とアラキドン酸エチルエステル（純度９０％）の１：４（wt/wt）混液を同じ条件で流しながらエステル交換反応を行った。反応液１００ｇを高真空下で蒸留してグリセリド画分を残査として回収した後、実施例１に従ってアルカリ条件下でヘキサン抽出した。エバポレーターにより溶媒を除去し、ヘキサン抽出物３５．７ｇを得た。このヘキサン抽出物に含まれているトリグリセリドと脂肪酸エステルの組成比をイヤトロスキャンで分析したところ９１：９であった。また、脂肪酸組成を分析した結果、カプリル酸、バルミチン酸、γ－リノレン酸、ジホモ－γ－リノレン酸及びアラキドン酸は、それぞれ２４．４、３４．５、１．５、２．６及び３７．０モル％であった。

【００５０】実施例３．実施例１で用いた固定化リゾムコール・ミイハイ（Rhizomucor miehei）リパーゼ（ノボ・ノルディスク（株）製；リポザイムIM60）に含まれている過剰の水を除去するために、該固定化酵素１２ｇ、ＳＵＮＴＧＡ－２５（サントリー（株）製）６０ｇからなる反応混液を１００mlのねじ蓋付きバイアル瓶に入れ、３０℃で４８時間振盪しながら反応させた（１回目）。固定化酵素だけを反応器に残し、実施例２で作成した８Ｐ８（１２ｇ）とミード酸エチルエステル（純度９０％）４８ｇを加えて十分窒素置換した後、３０℃で７２時間振盪しながらエステル交換反応を行った（２、３回目）。

【００５１】反応後、２回目と３回目の反応混液を合わせ、そのうち１００ｇを実施例２と同様に、高真空下で蒸留してグリセリド画分を残査として回収した。次いで、実施例１に従ってアルカリ条件下でヘキサン抽出した後、エバポレーターによりヘキサンを除去し、２４．１ｇのグリセリド画分を得た。この中に含まれているトリグリセリドと脂肪酸エステルの組成比をイヤトロスキャンで分析したところ９２：８であった。実施例１に従って高速液体クロマトグラフィーを行い示差屈折計のピーク面積から脂肪酸エステルと各トリグリセリド成分を定量したところ、ＭＰＭは１２．０％であった。

【００５２】またこの画分の脂肪酸組成は、カプリル酸、バルミチン酸、ミード酸がそれぞれ３１．２、３５．７及び３３．１モル％であった。エステル交換率を高めるために、得られたエステル交換トリグリセリドを再度ミード酸エチルエステルでエステル交換した。上記の固定化酵素にエステル交換トリグリセリド１２ｇとミード酸エチルエステル４８ｇを加えて３０℃で７２時間振盪しながら反応を行った（４回目）。反応後、反応液５５ｇを上述した方法で蒸留し、１２．３ｇのグリセリド画分を得た。この画分の脂肪酸組成は、カプリル酸、バルミチン酸及びミード酸がそれぞれ５．２、３８．６及び５６．１モル％であった。

【００５３】実施例４．実施例１で用いた固定化リゾムコール・ミイハイ（Rhizomucor miehei）リパーゼ（ノボ・ノルディスク（株）製；リポザイムIM60）に含まれている過剰の水を除去するために、該固定化酵素２ｇ、ＳＵＮＴＧＡ－２５（サントリー（株）製）１０ｇからなる反応混液を２０mlのねじ蓋付きバイアル瓶に入れ、３０℃で４８時間振盪しながら反応させた（１回目）。固定化酵素だけを反応器に残し、実施例２で作成した８Ｐ８（１２ｇ）とＳＵＮＴＧＡ－２５を加水分解して得られた脂肪酸混液８ｇを加えて十分窒素置換した後、３０℃で４８時間振盪しながらエステル交換反応を行った（２～５回目）。反応後、２～５回目の反応混液からヘキサン抽出したグリセリドを合わせ、再度のエステル交換反応の基質とした。

【００５４】上記の固定化酵素の入った反応器にエステル交換トリグリセリド２ｇとＳＵＮＴＧＡ－２５由来の脂肪酸混液１０ｇを加え、３０℃で４８時間振盪しながら反応させた（６、７回目）。６、７回目の反応混液からグリセリド画分を抽出し、再々度のエステル交換反応の基質とし、同様に反応を行った（８回目）。エステル交換反応を３回繰り返すことにより得られたトリグリセリドを構成する脂肪酸組成、トリグリセリドの１，３位および２位の各脂肪酸組成をガスクロマトグラフィーにより分析した。この結果を表１に示す。

【００５５】

【表１】

15 16

表１（単位：モル％）

脂肪酸の種類	新規構造脂質		
	全体	１，３位	２位
８：０	９	９	２
１６：０	３４	６	９６
１８：１ (n-9)	１１	１６	０
１８：２ (n-6)	１５	２２	１
１８：３ (n-6)	２	３	１
２０：３ (n-6)	１	３	０
２０：４ (n-6)	１５	２３	０

【００５６】実施例５．実施例１で得たＡＰＡを標準物質として、人母乳中の全トリグリセリドに占めるＡＰＡの割合を高速液体クロマトグラフィーにより分析した。検出器には蒸発光散乱検出器（ＤＤＬ３１、ＥＵＲＯＳＥＰ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ 製）を使用し、ＯＤＳカラム（ＣＯＳＭＯＳＩＬ，４．６ｘ２５０ｍｍ，ナカライテスク社製）を用い、溶離液には、アセトン／アセトニトリル（１：１，ｖｏｌ／ｖｏｌ）からアセトン１００％までのグラジエントを使用した。この結果、ＡＰＡは人母乳中にその全トリグリセリドに占める割合が０．１～０．６重量％で存在していることが確認された。人の母乳中のアラキドン酸の含有量（母乳中の油脂中の重量比で約０．５～１．０％）から、母乳中のアラキドン酸の１０～５０％がＡＰＡとして存在していると考えられた。

【００５７】実施例６．粉ミルク１００ｇに、実施例１で得られた新規構造脂質（ＡＰＡまたは８ＰＡ）０．３ｇを混合することによりヒト母乳型トリグリセリド含有調製乳を調製した。この調製乳の全脂肪酸に対するアラキドン酸の割合は、ＡＰＡを混合した場合には０．８％となり、８ＰＡを混合した場合には０．４％となった。

【００５８】実施例７．実施例４と同様の手法により大量に調製し、油脂精製を施した新規構造脂質４００ｇ、精製卵黄レシチン４８ｇ、オレイン酸２０ｇ、濃グリセリン１００ｇ及び０．１Ｎ－苛性ソーダ４０ｍｌを加え、ホモジナイザーで分散させたのち、注射用蒸留水を加え全液量を４リットルとする。これを高圧噴霧式乳化機にて乳化し、脂質乳液を調製した。該脂質乳液を２００ｍｌずつプラスチック製バッグに分注したのち、１２１℃、２０分間、高圧蒸気滅菌処理して脂肪輸液剤とする。

【００５９】実施例８．実施例３で得られた新規構造脂質を、常法に従って乳溷性注射剤として調製した。乳溷性注射液中の新規構造脂質の含量は１０％（Ｗ／Ｖ）であり、乳化剤として卵黄レシチン１．２％（Ｗ／Ｖ）を加え、更に血液と等張となるようにグリセリンにて浸透圧を調整した。

【００６０】実施例９．新生の雄豚（体重＞１ｋｇ）を１群６匹として無作為に４群に分けた（なお、同腹仔は別の群とした）。いずれの群も調製乳で飼育し、アラキドン酸含有トリグリセリドを調製乳に添加しない群（調製乳群）、アラキドン酸含有トリグリセリドとしてＳＵＮＴＧＡ－２５（サントリー（株）製）を調製乳に1g/Lの濃度で添加した群（ＳＵＮ群）、実施例１の方法で得られたＡＰＡを調製乳に0.4g/Lの濃度で添加した群（ＡＰＡ群）、実施例１の方法で得られた８ＰＡを調製乳に0.82g/Lの濃度で添加した群（８ＰＡ群）の４群とした。ＳＵＮ群、ＡＰＡ群、８ＰＡ群では調製乳中のアラキドン酸量がほぼ同じになるように調製した。表２にＳＵＮＴＧＡ－２５（表中ではＳＵＮと略記する）、ＡＰＡ、８ＰＡの全脂肪酸の組成並びにトリグリセリドの２位の位置の脂肪酸組成を示す。

【００６１】

【表２】

表２

	全脂肪酸			２位の脂肪酸		
脂肪酸	SUN	APA	8PA	SUN	APA	8PA
8:0	0	0	33.3	0	0	0
14:0	0.4	0	0	0	0	0
16:0	15.0	33.3	33.3	0.9	100.0	100.0
18:0	6.4	0	0	0	0	0
18:1 n-9	14.3	0	0	12.4	0	0
18:2 n-6	25.1	0	0	36.0	0	0
18:3 n-6	2.2	0	0	2.7	0	0
20:0	0.5	0	0	0.5	0	0
20:3 n-6	3.1	0	0	3.6	0	0
20:4 n-6	27.1	66.7	33.4	36.5	0	0
22:0	2.0	0	0	1.3	0	0
24:0	3.9	0	0	6.1	0	0

脂肪酸は（炭素数：二重結合の数）で表す。16:0, パルミチン酸; 18:0, ステアリン酸; 18:1 n-9, オレイン酸; 18:2 n-6, リノール酸; 18:3 n-6, γ-リノレン酸; 20:3 n-6, ジホモ-γ-リノレン酸、20:4 n-6, アラキドン酸

【００６２】投与１８日目に１０－１２時間絶食後、採血し、肝臓および肺を摘出した（分析までは-80 ℃で保存した）。血漿、肝臓中の脂肪酸組成は、調製乳中に存在する脂肪酸の影響を受け、調製乳群と比較して、ＳＵＮ群、ＡＰＡ群、８ＰＡ群の各群のアラキドン酸の含有率は高くなったものの、ＳＵＮ群、ＡＰＡ群、８ＰＡ群＊＊の各群間で有意な差は認められなかった。これは、食事性の脂肪酸の影響を直接受ける組織であるからと考えられる。そこで、次に、肺のリン脂質の脂肪酸組成を分析した。結果を表３に示す。

【００６３】

【表３】

表３

	肺リン脂質の脂肪酸組成			
脂肪酸	調製乳群	SUN群	APA群	8PA群
16:0	31.0±0.5	29.2±0.3	30.3±0.4	32.7±0.5
18:0	13.4±0.2	13.2±0.3	11.6±0.5	12.5±0.4
18:1 n-9	23.7±0.5	23.0±0.2	22.8±0.4	23.1±0.3
18:2 n-6	12.1±0.3	12.7±0.2	12.4±0.3	12.6±0.2
20:4 n-6	8.1±0.2	9.1±0.1	10.5±0.3	10.2±0.2
22:5 n-3	2.2±0.1	2.1±0.1	2.4±0.2	1.9±0.1
22:6 n-3	0.8±0.1	0.7±0.1	0.8±0.1	0.8±0.1

【００６４】肺のリン脂質の脂肪酸組成では、アラキドン酸の割合に有意な差が認められた。調製乳群と比べてＳＵＮ群の肺リン脂質中に占めるアラキドン酸の割合が高くなることは予想できる。しかし、同じアラキドン酸量が含まれているにもかかわらず、ＡＰＡ群並びに８ＰＡ群の肺リン脂質中に占めるアラキドン酸の割合は、ＳＵＮ群と比較しても有意に上昇した。この結果は、本発明の構造脂質のトリグリセリドの位置特性によるものと考えられる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.'	識別記号	ＦＩ		テーマコード（参考）
Ｃ０７Ｃ 69/30		Ｇ０１Ｎ 33/50	Ｆ	
Ｇ０１Ｎ 33/50		Ｃ１２Ｐ 7/64		
// Ｃ１２Ｐ 7/64		Ａ２３Ｄ 9/00	５１６	

(19) Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets

(11) EP 0 965 578 A1

(12) EUROPEAN PATENT APPLICATION

(43) Date of publication:
22.12.1999 Bulletin 1999/51

(51) Int Cl.[6]: **C07C 69/587**, A61K 31/23, A23L 1/30, A23D 9/00

(21) Application number: **99304789.3**

(22) Date of filing: **18.06.1999**

(84) Designated Contracting States:
AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU MC NL PT SE
Designated Extension States:
AL LT LV MK RO SI

(30) Priority: **19.06.1998 JP 17301798**

(71) Applicant: **SUNTORY LIMITED**
Osaka-shi, Osaka 530-8203 (JP)

(72) Inventors:
- **Akimoto, Kengo**
  Mishima-gun, Osaka 618-0001 (JP)
- **Yaguchi, Toshiaki**
  Ibaraki-shi, Osaka 567-0887 (JP)
- **Fujikawa, Shigeaki**
  Takatsuki-shi, Osaka 569-1022 (JP)

(74) Representative: **Stoner, Gerard Patrick et al**
MEWBURN ELLIS
York House
23 Kingsway
London WC2B 6HP (GB)

(54) Novel triglyceride and composition comprising the same

(57) The present invention provides a novel triglyceride and a composition containing that novel triglyceride having a triglyceride structure of the human breast milk type, which triglyceride has a saturated fatty acid having 16-18 carbon atoms at the position 2, at the position 1 and/or 3; which is and at least one ω6, ω9 or ω3 unsaturated fatty acid manufactured by subjecting a glyceride in which a saturated fatty acid having 16 to 18 carbon atoms is bonded at position 2 to transesterification using a lipase and a ω6, ω9 or ω3-unsaturated fatty acid.

EP 0 965 578 A1

Description

BACKGROUND OF THE INVENTION

1. Field of Invention

[0001] The present invention relates to a novel triglyceride and a composition comprising the same, and more particularly, to a triglyceride having a saturated fatty acid having 16 to 18 carbon atoms at the position 2 of the triglyceride, and having a ω6, ω9 and/or ω3 unsaturated fatty acids at the positions 1 and/or 3.

2. Related Art

[0002] The majority of the lipids that so far obtained are neutral fats that comprise a mixture of triglycerides in which various fatty acids are randomly ester-bonded to the positions 1, 2 and 3 of the triglyceride. These lipids were shown to demonstrate different absorption properties and physiological activities according to differences in the bonding positions of the fatty acids. Lipids in which specific fatty acids are bonded to predetermined positions of triglyceride (structured lipids) have recently attracted considerable attention.

[0003] For example, Japanese Examined Patent Publication No. 4-12920 discloses a triglyceride having satisfactory digestion and absorption property in which a fatty acid having 8 to 14 carbon atoms is bonded to the position 2 of the triglyceride and fatty acids having 18 or more carbon atoms are bonded to the positions 1 and 3. In addition, since it is known that 2-monoglycerides are of a form that is most easily absorbed by the human body, Japanese Examined Patent Publication No. 5-87497 discloses a triglyceride in which a ω3 or ω6 highly unsaturated fatty acid having physiological function is bonded to the position 2, while saturated fatty acids easily hydrolyzable by enzymes of the digestive tract are bonded at the positions 1 and 3. However, there is no disclosure or suggestion of the relationship between the physiological properties and the structure of triglycerides in human breast milk having unsaturated fatty acids.

[0004] On the other hand, with respect to the physiological function of fatty acids, attention has focused in recent years on arachidonic acid and docosahexaenoic acid. These fatty acids are contained in human breast milk and have been reported to be useful in infant development (Advances in Polyunsaturated Fatty Acid Research, Elsevier Science Publishers, 1993, pp. 261-264) and to be important in infant growth and brain development (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 1073-1077 (1993), Lancet, 344, 1319-1322 (1994)).

[0005] Several official agencies have recommended intake values (premature infants: arachidonic acid: 60 mg/kg, docosahexaenoic acid: 40 mg/kg; normal infants: arachidonic acid: 20 mg/kg, docosahexaenoic acid: 20 mg/kg body weight/day (WHO-FAO (1994)). In several countries in Europe, premature infant formulas have been marketed that contain docosahexaenoic acid and arachidonic acid produced by fermentation blended as triglycerides. However, there have been no considerations given to the bonding positions of arachidonic acid and/or docosahexaenoic acid in the triglycerides added to these formulas.

[0006] The triglyceride structure in human breast milk is predicted to be such that there is a high proportion of triglycerides in which palmitic acid (16:0) is bonded to position 2 of the triglyceride, and a high proportion of triglycerides in which highly unsaturated fatty acid or medium chain fatty acid is bonded to positions 1 and 3 (Christie, W.W. (1986): The Positional Distribution of Fatty Acids in Triglycerides, Analysis of Oils and Fats, Hamilton, R.J. and Russell, J.B. eds., pp. 313-339, Elsevier Applied Science, London). However, these are merely suppositions based on the results of analysis of fatty acids in triglycerides, while isolation and structural analysis of triglycerides in human breast milk have not yet been attempted.

[0007] In addition, although triglycerides containing arachidonic acid produced by fermentation have been added to formula to allow fatty acid composition to more closely approximate the composition of human breast milk as previously described, since the structure of these triglycerides containing arachidonic acid is such that there is a high proportion of triglycerides in which palmitic acid and other saturated fatty acids are bonded at the positions 1 and 3 while unsaturated fatty acids are bonded at position 2 (J.J. Myher, A. Kuksis, K. Geher, P.W. Park and D.A. Diersen-Schade, Lipids, 31, pp. 207-215 (1996)), it is different from the structure of triglycerides hypothesized in human breast milk.

[0008] Thus, there is a strong desire to develop lipids surmised to have the glyceride structure of human breast milk, and more specifically, triglycerides reliably confirmed to have a structure in which saturated fatty acid having 16 to 18 carbon atoms is bonded at the position 2 of the triglyceride, while highly unsaturated fatty acids or medium chain fatty acids are bonded at positions 1 and 3.

SUMMARY OF THE INVENTION

[0009] Thus, the object of the present invention is to provide a novel triglyceride having at the position 2 a saturated fatty acid of 16 to 18 carbon atoms, and at the positions 1 and 3 unsaturated fatty acids wherein at least one of these

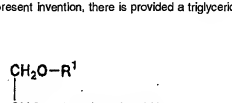
unsaturated fatty acids is a ω6, ω9 or ω3 unsaturated fatty acid; or a novel triglyceride having at position 2 a saturated fatty acid of 16 to 18 carbon atoms, having at one of positions 1 and 3 a saturated fatty acid of 4 to 18 carbon atoms, and having at another position of the positions 1 and 3 a ω6, ω9 or ω3 unsaturated fatty acid; and a composition containing this novel triglyceride.

[0010] As a result of earnest research to solve the above-mentioned problems, the inventors of the present invention found that triglyceride estimated to be of target human breast milk type can be manufactured starting from a glyceride clearly determined to have a saturated fatty acid of 16 to 18 carbon atoms at the position 2, allowing lipase that specifically acts on ester bonds at the positions 1 and 3 to act on said glyceride in the presence of ω6, ω9 or ω3 unsaturated fatty acid or ester thereof, resulting in transesterification only at the positions 1 and 3, so as to obtain a triglyceride having at the position 1 and/or 3 ω6, ω9 or ω3 unsaturated fatty acids. Moreover, by comparing the resulting triglyceride with triglyceride obtained from human breast milk, the present inventors also determined for the first time that triglyceride having a saturated fatty acid of 16 to 18 carbon atoms at the position 2 of the triglyceride and highly unsaturated fatty acids at the positions 1 and 3 is in tact present in human breast milk, thereby leading to completion of the present invention.

DETAILED DESCRIPTION

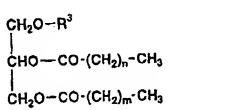
[0011] The present invention relates to a novel triglyceride, as well as a food composition, animal feed, therapeutic nutritional product and pharmaceutical composition comprising said triglyceride.

[0012] According to the present invention, there is provided a triglyceride represented with the following general formula (I):



(I)

wherein R^1 and R^2 are acyl groups of unsaturated fatty acids having 18 to 22 carbon atoms, these acyl groups may be oxidized, and n represents an integer of 14 to 16, and at least one of R^1 or R^2 is a ω6, ω9 or ω3 unsaturated fatty acid; or, a triglyceride represented with the following general formula (II):



(II)

wherein, R^3 represents an acyl group of an ω6, ω9 or ω3-unsaturated fatty acid having 18 to 22 carbon atoms, this acyl group may be oxidized, n represents an integer of 14 to 16, and m represents an integer of 2 to 16.

[0013] The fatty acid that is present at the positions 1 and/or 3 of the triglyceride of the present invention is ω3, ω6 and/or ω9 unsaturated fatty acid. More specifically, examples of the ω3 unsaturated fatty acids include:

9,12,15-octadecatrienoic acid (α-linolenic acid) [18:3, ω3];
6,9,12,15-octadecatetraenoic acid (stearidonic acid) [18:4, ω3];
11,14,17-eicosatrienoic acid (dihomo-α-linolenic acid) [20:3, ω3];
8,11,14,17-eicosatetraenoic acid [20:4, ω3], 5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid [20:5, ω3];
7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid [22:5, ω 3]; and
4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid [22:6, ω 3].

[0014] In addition, examples of the ω6 unsaturated fatty acids include:

9,12-octadecadienoic acid (linoleic acid) [18:2, ω6];
6,9,12-octadecatrienoic acid (γ-linolenic acid) [18:3, ω6];
8,11,14-eicosatrienoic acid (dihomo-γ-linolenic acid) [20:3 ω6];
5,8,11,14-eicosatetraenoic acid (arachidonic acid) [20:4, ω6];
7,10,13,16-docosatetraenoic acid [22:4, ω6] and
4,7,10,13,16-docosapentaenoic acid [22:5, ω6].

[0015] Moreover, examples of the ω3 unsaturated fatty acids include:

6,9-octadecadienoic acid [18:2, ω9];
8,11-eicosadienoic acid [20:2, ω9]; and
5,8,11-eicosatrienoic acid (Mead acid) [20:3, ω9].

[0016] Moreover, acyl residues may be hydroxylated, epoxidated or hydroxyepoxidated acyl residues.

[0017] The fatty acid that is present at the position 2 of the novel triglyceride of the present invention is a fatty acid having 16 to 18 carbon atoms, examples of which include palmitic acid (16:0) and stearic acid (18:0).

[0018] Representative triglycerides of the present invention include:
1,3-diarachidonyl-2-palmitoyl triglyceride,

1-arachidonyl-3-docosahexaenoyl-2-palmitoyl triglyceride,
1-arachidonyl-3-octanoyl-2-palmitoyl triglyceride,
1,3-didocosahexaenoyl-2-palmitoyl triglyceride,
1-(dihomo-γ-linolenyl)-3-docosahexaenoyl-2-palmitoyl triglyceride,
1-docosahexaenoyl-3-octanoyl-2-palmitoyl triglyceride,
1-arachidonyl-3-(dihomo-γ-linolenyl)-2-palmitoyl triglyceride,
1-(dihomo-γ-linolenyl)-3-octanoyl-2-palmitoyl triglyceride,
1,3-bis(dihomo-γ-linolenyl)-2-palmitoyl triglyceride,
1,3-bis(5,8,11-eicosatrienoyl)-2-palmitoyl triglyceride,
1-(5,8,11-eicosatrienoyl)-3-octanoyl-2-palmitoyl triglyceride,
1-arachidonyl-3-(5,8,11-eicosatrienoyl)-2-palmitoyl triglyceride, and
1-docosahexaenoyl-3-(5,8,11-eicosatrienoyl)-2-palmitoyl triglyceride.

[0019] The novel triglyceride of the present invention can be manufactured by allowing lipase that specifically acts on the ester bonds at the positions 1 and 3 of triglyceride to act on a triglyceride having a saturated fatty acid of 16 to 18 carbon atoms bonded at the position 2, resulting in transesterification with an ω6, ω9 or ω3-unsaturated fatty acid or ester thereof.

[0020] Although examples of triglyceride having a saturated fatty acid of 16 to 18 carbon atoms bonded at the position 2 include tripalmitin (in which palmitic acid (16:0) is bonded at the positions 1, 2 and 3) and tristearin (in which stearic acid (18:0) is bonded at the positions 1, 2 and 3), it is not necessary for all the ester-bonded fatty acids in the triglyceride to be the same. Any fatty acid or any combination of fatty acids having 4 to 18 carbon atoms may be bonded to positions 1 or 3 provided a saturated fatty acid having 16 to 18 carbon atoms is bonded at the position 2 of the triglyceride.

[0021] Since oil or fat having saturated fatty acids of 16 or more carbon atoms for their constituent fatty acids have a high melting point, it may be necessary to raise the reaction temperature. For example, in the case of using tripalmitin, although varying according to the composition of the reaction mixture, the reaction might have to be carried out at 50 to 70°C. However, such a high temperature could be cause inactivation of enzyme and denaturation of unsaturated fatty acid added for the transesterification. Therefore, it is preferred that starting oil or fat having at the positions 1 and/or 3 low-melting point fatty acids of 8 to 12 carbon atoms, oleic acid, linoleic acid etc. is used for transesterification and that the transesterification is carried out at a temperature of 45°C or lower.

[0022] Triglyceride of the present invention having at the position 2 a saturated fatty acid of 16 to 18 carbon atoms can have at any of the positions 1 and 3 an ω6, ω9 or ω3-unsaturated fatty acid. A triglyceride having a ω 6, ω9 or ω3-unsaturated fatty acid at only one of the position 1 and 3 can be converted to a corresponding triglyserade having same or different ω6, ω9 or ω3-unsaturated fatty acids at both of the positions 1 and 3.

[0023] For example, triglycerides having saturated fatty acid at the position 2 and unsaturated fatty acid at one of the positions 1 and 3 can be obtained by culturing the genus Cryptthecodenium, Thraustochytrium, Schizochytrium, Ulkenia, Japonochytorium or Haliphthoros.

[0024] From said triglycerides, for example, 1,2-dipalmitoyl-3-docosahexaenoyl triglyceride can be isolated. When a 1 and 3-positions-specific lipase acts on said glyceride resulting in transesterification with a ω6, ω9 or ω3-unsaturated fatty acid or an ester thereof, the docosahexaenorate at the position 3 is not transesterified while only palmitate at the

position 1 is transesterified to provide a triglyceride having a ω6, ω 9 or ω3-unsaturated fatty acid at the position 1, palmitic acid at the position 2 and docosahexaenoic acid at the position 3. More particularly, if arachidonic acid is used as said unsaturated fatty acid to be transestirified, a triglyceride having arachidonic acid at the position 1, palmitic acid at the position 2 and docosahexaenoic acid at the position 3 is obtained.

[0025] In the present invention, lipase that specifically acts on the positions 1 and 3 of triglyceride can be used as catalyst. Although there are no particular limitations on this lipase, examples include lipase produced by a microorganism belonging to the genus Rhizopus, Rhizomucor, Mucor, Penicillium, Aspergillus, Humicola or Fusarium, as well as porcine pancreatic lipase. Commercially available products can also be used for said lipase.

[0026] Examples of commercially available lipase include lipase of Rhizopus delemar (Tanabe Pharmaceutical, Dalipase), lipase of Rhizomucor miehei (Novo Nordisk, Ribozyme IM), lipase of Aspergillus niger (Amano Pharmaceutical, Lipase A), lipase of Humicola lanuginosa (Novo Nordisk, Lipolase), lipase of Mucor javanicus (Amano Pharmaceutical, Lipase M) and lipase of Fusarium heterosporum. These lipases may be used in their native form, or in the form of lipase that has been immobilized to cellite, ion exchange resin or a ceramic carrier.

[0027] The amount of water added to the reaction system is extremely important. Transesterification does not proceed in the absolute absence of water, while if the amount of water is too much, hydrolysis occurs, the triglyceride recovery rate decreases, or spontaneous acyl group transfer occurs in a partially acylated glyceride resulting in transfer of the saturated fatty acid at the position 2 to the position 1 or 3. Thus, when using an immobilized enzyme that does not have bonded water, it is effective to first activate the enzyme using a substrate to which water has been added before carrying out the reaction, and then use a substrate to which water is not added during the reaction. In order to activate the enzyme in batch reactions, a substrate containing water at 0 to 1,000% (wt%) of the amount of added enzyme should be used to pretreat the enzyme, and in the case of activating by a column method, a water-saturated substrate should be allowed to continuously flow through the column.

[0028] For example, the amount of water in a batch reaction for activating lipase of Rhizopus delemar (Tanabe Pharmaceutical, Dalipase) immobilized on cellite or a ceramic carrier is 10 to 200% (wt%) of the amount of enzyme added. However, the amount of water required for activation of an enzyme for the transesterification reaction is greatly influenced by the type of enzyme used. For example, water is not substantially required if lipase of Rhizomucor miehei (Novo Nordisk, Lipozyme IM) is used, and rather, any excess water must be removed. Excess water should be removed by hydrolyzing a triglyceride that does not impair the primary reaction for the substrate.

[0029] The amount of lipase used in a batch reaction may be determined according to the reaction conditions. Although there are no particular limitations on the amount of lipase, 1 to 30% (wt%) of the reaction mixture is suitable when using, for example, lipase of Rhizopus delemar or lipase of Rhizomucor miehei immobilized on cellite or a ceramic carrier.

[0030] Transesterification in a batch reaction is performed according to the method described below. Namely, an ω6, ω9 or ω3 unsaturated fatty acid or an ester thereof is added to triglyceride having a saturated fatty acid of 16 to 18 carbon atoms bonded at the position 2. Examples of fatty acid esters that can be used include methyl esters, ethyl esters, propyl esters and butyl esters. The triglyceride/fatty acid or triglyceride/fatty acid ester ratio used as starting materials is suitably 1:0.5-20. A suitable amount of activated or dehydrated lipase that specifically acts on positions 1 and 3 (normally 5,000 to 50,000 U/g; 1 U of lipase is the amount of enzyme that releases 1 μmol of fatty acid per minute using olive oil as substrate) is added to the substrate followed by carrying out transesterification for 2 to 100 hours at 20 to 72°C while stirring or shaking.

[0031] The above-mentioned immobilized enzyme can be used repeatedly. Namely, the reaction can be continued by leaving the immobilized enzyme in a reaction vessel after reaction and replacing the reaction mixture with freshly prepared reaction mixture comprising substrate. In addition, for transesterification by a column method, a reaction mixture containing substrate be allowed to flow continuously at the rate of 0.05 to 20 ml/hr per gram of enzyme.

[0032] In addition, the content of target triglyceride can be increased by performing transesterification repeatedly. Namely, lipase specifically acting on the positions 1 and 3 of triglyceride is allowed to act in the presence of an ω6, ω9 or ω3 unsaturated fatty acid or an ester thereof to obtain a reaction mixture in which fatty acids at positions 1 and 3 are transesterified to provide ω6, ω9 and/or ω3 unsaturated fatty acids.

[0033] Next, triglyceride is purified from said reaction mixture according to a method to be described later, and transesterification is again performed with ω6, ω9 or ω 3-unsaturated fatty acid or an ester using said purified triglyceride as starting material. The content of the target triglyceride can be dramatically increased by repeating this transesterification, and transesterification should preferably be repeated 2 to 5 times.

[0034] In transesterification using a conventional immobilized lipase, a fatty acid acyl group bonded at the position 2 of partially esterified glyceride formed by hydrolysis that occurs as a side reaction is transferred to another position. In the present invention, however, hydrolysis can be nearly completely suppressed and the amount of partially esterified glyceride formed is about 1%, thereby solving the problem of the prior art. In addition, if the water content contained in the substrate is no more than several thousand ppm, hydrolysis that occurs as a side reaction can be ignored, and precise control of the water content in the substrate is not necessary.

[0035] Moreover, in contrast a decrease of enzyme activity after several uses in reactions in organic solvent or reactions at 50°C or above using an immobilized enzyme in a conventional process, inactivation of enzyme does not occur in a reaction system of the present invention wherein the reaction is carried out at 45°C or lower, and does not use organic solvent, making it possible to use the enzyme more than 20 times in batch reactions, and for more than 100 days in column reactions.

[0036] Due to the use of a simple substrate in the present invention, triglycerides obtained from the reaction comprises a few molecules species. Therefore, the target triglyceride can easily be isolated by routine methods such as liquid chromatography, molecular distillation, downstream membrane fractionation or vacuum superfractionation or a combination thereof. The triglycerides manufactured in the present invention are triglycerides in which unsaturated fatty acid is bonded at the positions 1 and/or 3, and said triglycerides exist in a form of mixture with unreacted starting glycerides, unreacted unsaturated fatty acid or ester thereof, and fatty acids or esters thereof released by transesterification from the positions 1 and/or 3 of the starting triglyceride formed.

[0037] Therefore, purification of the target triglyceride having unsaturated fatty acids bonded at the positions 1 and/or 3 and a saturated fatty acid of 16 to 18 carbon atoms bonded at the position 2 can be performed by alkaline deacidation, steam distillation, molecular distillation, downstream membrane fractionation, vacuum superfractionation, column chromatography, solvent extraction or membrane separation, or a combination thereof so as to remove the above-mentioned fatty acids released by the transesterification and unreacted unsaturated fatty acids.

[0038] Since a triglyceride obtained in the present invention having a palmitic acid moiety bonded at the position 2 and arachidonic acid and/or docosahexaenoic acid moieties at the positions 1 and 3 is considered to have the same structure of triglyceride as in human breast milk, it can be effectively used for premature infant formula, infant formula, milk supplement, or formula for pregnant or lactating women. Namely, a triglyceride of the present invention having palmitic acid at the position 2 and arachidonic acid and/or docosahexaenoic acid at the positions 1 and/or 3 may be added to the manufacturing process or finished product of a formula such as premature infant formula, infant formula or milk supplement, a formula so as to obtain products more closely approximates human breast milk.

[0039] The present invention provides not only triglycerides having the same ω6, ω9 or ω3-unsaturated fatty acids at the positions 1 and 3, which is the same structure as triglycerides in human breast milk and useful for a source of ω6, ω9 and ω3-unsaturated fatty acids, but also triglycerides having different ω6, ω9 or ω3-unsaturated fatty acid moieties at the positions 1 and 3, such as triglyceride having a ω6-unsaturated fatty acid such as arachidonic acid at the position 1 and a ω3-unsaturated fatty acid such as docosahexaenoic acid at the position 3, which is more useful as a source of unsaturated fatty acids because one triglyceride molecule provides two different unsaturated fatty acids.

[0040] In addition to formula for administration to premature infants and infants, other possible uses of the triglycerides of the present invention include addition to milk, soy bean milk and other dairy products as well as addition to products using oils or fats. Examples of products using oils or fats include natural foods such as meat, fish and nut oils and fats, Chinese food, noodles, soups and other foods to which oil or fat is added during preparation, Japanese deep-fried found, fried foods, deep-fried bean curd, fried rice, doughnuts, deep-fried confections and other foods that use oil or fat as a heating medium, butter, margarine, mayonnaise, salad dressing, chocolate, instant noodles, caramel, cookies, ice cream and other oily foods or foods to which fats or oils are added during processing, and sweet bean jamfilled breads and other foods on which oil or fat is sprayed or coated during final processing.

[0041] Other examples include bread, noodles, rice, confections, their processed foods and other agricultural foods, rice wine, medicinal rice wine and other fermented foods, sweetened rice wine, vinegar, soy sauce, fermented bean paste, salad dressing, yogurt, ham, bacon, sausage, mayonnaise and other livestock food products, pressed fish, deep-fried seafood, fish cake and other marine food products, and fruit juices, soft drinks, sports drinks, alcoholic beverages, tea and other beverages.

[0042] In addition, in the case of using as health foods or functional foods, although the form may be that of the drug forms indicated below or the foods or beverages indicated above, they may be also be in a processed form such as natural liquid foods, semi-digested nutritional foods, component nutrient foods or drinks, containing proteins (although proteins such as milk protein, soy bean protein and egg white albumin having balanced amino acids and a high nutritional value are commonly used as protein sources, their decomposition products, egg white oligopeptides, soy bean hydrolysates or mixtures of individual amino acids may also be used), sugars, lipids, trace elements, vitamins, emulsifiers, fragrances and so forth.

[0043] Foods and beverages of the present invention can be processed and manufactured according to ordinary manufacturing methods by adding a prescribed amount of triglyceride of the present invention. The amount of addition varies according to drug form, food form and physical properties. Although the amount added is preferably 0.01 to 50% in general, there are no particular limitations on this amount. In addition, in the case of ingestion as a health food or functional food, triglyceride of the present invention can be administered to patients in the form of a functional food prepared locally by adding a novel triglyceride of the present invention during preparation of hospital foods under the supervision of a nutritionist in accordance with the dietary regimen prescribed by a physician based on physiological function and titer of highly unsaturated fatty acids bonded at positions 1 and 3 of triglyceride of the present invention.

[0044] In the case of using the triglyceride of the present invention as a pharmaceutical, the form of administration may be of any form provided oral or parenteral administration is suitably performed, examples of such forms include injection solutions, transfusion solutions, powders, granules, tablets, capsules, enteric coated pills, lozenges, internal liquid preparations, suspensions, emulsions, syrups, external liquid preparations, poultices, nose drops, inhalants, ointments, lotions and suppositories. These can be used either alone or in combination according to symptoms.

[0045] Each of these preparations can be prepared by using a known assistant that can be normally used in the field of pharmaceutical preparation technology, including vehicles, binders, antiseptics, stabilizers, decomposing agents, lubricants and correctives, with the primary drug according to the objective in accordance with routine methods.

[0046] Although the dose varies according to the objective of administration, the fatty acids bonded at the positions 1 and 3 of the triglyceride (physiological activity, titer, etc.) and the status of the patient receiving administration (sex, age, body weight, etc.), the normal adult dose in the case of oral administration is 0.01 mg to 10 g, preferably 0.1 mg to 2 g, and more preferably 1 mg to 200 mg, per day as the total amount of structured lipid of the present invention, and in the case of parenteral administration, 0.001 mg to 1 g, preferably 0.01 mg to 200 mg, and more preferably 0.1 mg to 100 mg, per day as the total amount of structured lipid of the present invention, and these doses can be suitably adjusted within the above ranges.

[0047] Moreover, the triglyceride of the present invention may be a triglyceride that has not previously been isolated or synthesized, and can be used as an analytical standard substance.

EXAMPLES

[0048] The following provides a detailed explanation of the present invention through its examples.

[0049] Furthermore, fatty acids and triglycerides are indicated with the following abbreviations in the present examples for the sake of convenience. To begin with, the following are used for single letter abbreviations representing fatty acids: 8: caprylic acid, P: palmitic acid, A: arachidonic acid, M: Mead acid, D: docosahexaenoic acid. Next, triglycerides are described with three letters consisting of a single letter abbreviation representing the fatty acid bonded at the position 1, a single letter abbreviation representing the fatty acid bonded at the position 2, and a single letter abbreviation representing the fatty acid bonded at the position 3. Thus, the structure of triglycerides is described as shown in the following example: 8P8 (triglyceride having caprylic acid bonded at the position 1, palmitic acid bonded at the position 2, and caprylic acid bonded at the position 3).

Example 1

[0050] Using a 1:2 (wt/wt) substrate mixture of tripalmitin (PPP) and caprylic acid, a reaction mixture comprising 10.5 g of said substrate mixture and 1.2 g of Rhizomucor miehei immobilized lipase (Novo Nordisk, Lipozyme IM60) was placed in a screw-cap vial and incubated while shaking (140 times/minute) for 48 hours at 50°C. After reaction, the reaction mixture was replaced with a fresh substrate mixture while leaving only the immobilized enzyme, and the next reaction was carried out under the same conditions. The reaction was carried out for 4 cycles while repeatedly using the immobilized enzyme, and the respective reaction mixtures were collected.

[0051] 70 ml of 0.5 N KOH (20% ethanol solution) was added to each reaction mixture (10.5 g) and after extracting the glyceride fraction with 100 ml of hexane, the solvent was removed with an evaporator and the glyceride was recovered. As a result of testing the glyceride composition using Iyatroscan (Yatron), although 8% diglyceride was contained in the product of the first reaction cycle, the content of partially esterified glycerides in the glycerides of the second reaction cycle and thereafter was 1% or less. The fatty acid composition of the glyceride fractions of the 2nd to 4th reaction cycles was 45.1% caprylic acid and 54.9% palmitic acid.

[0052] Transesterification was repeated using the glyceride fractions of the 2nd to 4th reaction cycles as a starting material in order to enhance the exchange rate of caprylic acid. 3.5 g of the prepared glyceride and 7 g of caprylic acid were added to the Lipozyme IM60 (1.2 g) used in the above-mentioned reaction after which the reaction was carried out while shaking for 48 hours at 30 °C (5th cycle). After reaction, the reaction mixture was replaced with a fresh substrate mixture and the reaction was again carried out under the same conditions (6th cycle). The glyceride fractions were recovered from the 5th and 6th reaction mixtures by hexane extraction (total 4.8 g). The fatty acid composition of the resulting glyceride fraction (mol%) was 64.2% caprylic acid and 35.8% palmitic acid. The partially esterified glycerides contained in this glyceride fraction 8P8 accounted for 1% or less, and as a result of analyzing with an ODS column (Wakosil-II 3C18, 4.6 x 150 mm, two columns) using acetone/acetonitrile (1:1, vol/vol) for the elution solvent, the purity of 8P8 was determined to be 93%.

[0053] Transesterification was again carried out (7th cycle) for 48 hours at 30°C using the resulting 8P8 (3.5 g) and 7 g of arachidonic acid (purity: 90%) as starting materials with the Lipozyme IM60 used in the above-mentioned reactions. After reaction, the reaction mixture was extracted with hexane under alkaline conditions to obtain a glyceride fraction (4.8 g). when the fatty acid composition of the glyceride fraction was analyzed, the contents of caprylic acid,

palmitic acid, γ-linolenic acid and arachidonic acid were 38.5, 23.1, 2.4 and 34.0 mol%, respectively. As a result of fractionating this glyceride by high-performance liquid chromatography using acetone/acetonitrile (1:1, vol/vol) for the elution solvent and an ODS column (SH-345-5, 20 x 500 mm, YMC), the amounts of 8PA and APA were 0.72 and 0.44 g, respectively.

Example 2

[0054] 8P8 was prepared by carrying out the reaction on a scale 100 times larger than the method described in Example 1, and used as a starting material.

[0055] Rhizopus delemar lipase (Tanabe Pharmaceutical, Talipase) was immobilized a ceramic carrier (SM-10, NGK) in accordance with the method described in J. Ferment. Bioeng., 81, 299-303 (1996). After filling a column with 10 g of the immobilized enzyme (31,000 U/g), 100 ml of a 1:2 (wt/wt) mixture of hydrated soy bean oil and caprylic acid was allowed to flow at a flow rate of 3 ml/hr at 30° C to activate the immobilized enzyme.

[0056] Next, 50 ml of soy bean oil free of water was allowed to flow and after removing the excess water, a 1:4 (wt/wt) mixture of 8P8 and arachidonic acid ethyl ester (purity: 90%) was subjected to transesterification while allowing to flow under the same conditions. 100 g of reaction mixture was distilled under a high vacuum, and after collecting the glyceride fraction as residue, it was extracted with hexane under alkaline conditions in accordance with Example 1. The solvent was then removed with an evaporator to obtain 35.7 g of hexane extract. when the composition ratio of triglyceride and fatty acid ester contained in this hexane extract was analyzed with the Iyatroscan, the ratio was found to be 91:9. In addition, as a result of analyzing the fatty acid composition, the contents of caprylic acid, palmitic acid, γ-linolenic acid, dihomo-γ-linolenic acid and arachidonic acid were 24.4, 34.5, 1.5, 2.6 and 37.0 mol%, respectively.

Example 3

[0057] In order to remove the excess water contained in the Rhizomucor miebei immobilized lipase (Novo Nordisk, Lipozyme IM60) used in Example 1, 100 ml of a reaction mixture comprising 12 g of said immobilized enzyme and 60 g of SUNTGA-25 (Suntory) was placed in a screw-cap vial and allowed to react while shaking for 48 hours at 30°C (1st cycle). After leaving only the immobilized enzyme, adding the 8P8 (12 g) prepared in Example 2 and 48 g of Mead acid ethyl ester (purity: 90%), and completely replacing the upper space in the vial with nitrogen, transesterification was performed twice while shaking for 72 hours at 30°C (2nd and 3rd cycles).

[0058] After reaction, the reaction mixtures from the 2nd and 3rd cycles were combined and 100 g of the combined reaction mixture used in the same manner as Example 2 to recover the glyceride fraction as residue after distilling under high vacuum. Next, after extracting with hexane under alkaline conditions in accordance with Example 1, the hexane was removed with an evaporator to obtain 24.1 g of glyceride fraction. when the composition ratio of triglyceride and fatty acid ester contained in this fraction was analyzed by Iyatroscan, the ratio was found to be 92:8. When the contents of fatty acid ester and each triglyceride were quantified from the peak area of a differential refractometer by performing high-performance liquid chromatography in accordance with Example 1, the MPM content was determined to be 12.0%.

[0059] The fatty acid composition of this fraction comprised caprylic acid, palmitic acid and Mead acid at 31.2, 35.7 and 33.1 mol%, respectively.

[0060] The resulting transesterified triglyceride was additionally transesterified with Mead acid ethyl ester to enhance the ester exchange rate. 12 g of transesterified triglyceride and 48 g of Mead acid ethyl ester were added to the above-mentioned immobilized enzyme and reacted while shaking for 72 hours at 30°C (4th cycle). After reaction, 55 g of reaction mixture was distilled using the method described above to obtain 12.3 g of glyceride fraction. The fatty acid composition of this fraction comprised caprylic acid, palmitic acid and Mead acid at 5.2, 38.6 and 56.1 mol%, respectively.

Example 4

[0061] In order to remove the excess water contained in the Rhizomucor miehei immobilized lipase (Novo Nordisk, Lipozyme IM60) used in Example 1, a reaction mixture comprising 2 g of said immobilized enzyme and 10 g of SUNTGA-25 (Suntory) was placed in a 20 ml screw-cap vial and reacted while shaking for 48 hours at 30°C (1st cycle). While leaving only the immobilized enzyme in the reaction vessel, 8P8 (12 g) prepared in Example 2 and 8 g of fatty acid mixture obtained by hydrolyzing SUNTGA-25 were added, followed by completely replacing with nitrogen and transesterification while shaking for 48 hours at 30°C (2nd-5th cycles). After reaction, glycerides extracted with hexane from the reaction mixtures of the 2nd through 5th cycles were combined and used as a substrate for additional transesterification.

[0062] 2 g of transesterified triglyceride and 10 g of fatty acid mixture derived from SUNTGA-25 were added to the

reaction vessel containing the above-mentioned immobilized enzyme and reacted while shaking for 48 hours at 30°C (6th and 7th cycles). The glyceride fractions were extracted from the reaction mixtures of the 6th and 7th cycles followed by reacting in a similar manner again using these as transesterification substrate (8th cycle). The fatty acid composition of triglyceride obtained by repeating transesterification three times as well as fatty acid composition at triglyceride positions 1 and 3 and at position 2 were analyzed. Those results are shown in Table 1.

Table 1

(units: mol%)			
Types of Fatty Acids	Novel Structured Lipids		
	Overall	Positions 1,3	Position 2
8:0	9	9	2
16:0	34	6	96
18:1 (n-9)	11	16	0
18:2 (n-6)	15	22	1
18:3 (n-6)	2	3	1
20:3 (n-6)	1	3	0
20:4 (n-6)	15	23	0

Example 5

[0063] The proportion of APA in all triglycerides in human breast milk was analyzed by high-performance liquid chromatography using the APA obtained in Example 1 for a standard. An evaporating light scattering detector (DDL31, EUROSEP Instruments) was used as a detector along with an ODS column (Cosmosil, 4.6 x 250 mm, Nakaraitesk), and a gradient from acetone/acetonitrile (1:1, vol/vol) to 100% acetone was used for as an eluent. As a result, the proportion of APA in all triglycerides in human breast milk was confirmed to be 0.1 to 0.6 wt%. Based on the content of arachidonic acid in human breast milk (approximately 0.5 to 1.0% based on the weight ratio in oils or fats of human breast milk), 10 to 50% of arachidonic acid in human breast milk was considered to be present as APA.

Example 6

[0064] A formula was prepared that contained human breast milk type triglyceride by mixing 0.3 g of novel structured lipid obtained in Example 1 (APA or 8PA) into 100 g of powdered milk. The proportion of arachidonic acid to total fatty acid in this formula was 0.8% in the case of mixing in APA and 0.4% in the case of mixing in 8PA.

Example 7

[0065] 400 g of the present triglyceride preparation prepared in large volume according to the same procedure as Example 4 and purified, 48 g of purified egg yolk lecithin, 20 g of oleic acid, 100 g of concentrated glycerin and 40 ml of 0.1 N sodium hydroxide were dispersed with a homogenizer, and distilled water for injection was added to the homogenate to bring to a total liquid volume of 4 liters. This was emulsified with a high-pressure spraying emulsifier to prepare a lipid emulsion. After filling 200 ml aliquots of said lipid emulsion into plastic bags, the plastic bags were sterilized using high-pressure steam for 20 minutes at 121°C to obtain a lipid transfusion agent.

Example 8

[0066] The triglyceride preparation obtained in Example 3 was formulated in a form of an emulsified injection preparation in accordance with routine methods. The content of the triglyceride preparation in the emulsified injection preparation was 10% (W/V). 1.2% (W/V) of egg yolk lecithin was added as emulsifier, and osmotic pressure was adjusted with glycerin so as to be isotonic with blood.

Example 9

[0067] Male newborn pigs (body weight > 1 kg) were randomly assigned to four groups of 6 animals (and siblings

were assigned to different groups). All groups were raised on formula. The four groups consisted of a group in which arachidonic acid-containing triglyceride was not added to the formula (formula group), a group in which SUNTGA-25 (Suntory) was added to the formula as arachidonic acid-containing triglyceride at a concentration of 1 g/liter (SUN group), a group in which the APA obtained by the method of Example 1 was added to the formula at a concentration of 0.4 g/liter (APA group), and a group in which the 8PA obtained by the method of Example 1 was added to the formula at a concentration of 0.82 g/liter (8PA group). The SUN, APA and 8PA groups were adjusted so that the amount of arachidonic acid in the formula was roughly equal. Table 2 indicates the composition of all fatty acids of SUNTGA-25 (abbreviated as SUN in the table), APA and 8PA along with the composition of fatty acids at triglyceride position 2.

Table 2

Fatty Acid	Total Fatty Acids			Fatty Acids at Position 2		
	SUN	APA	8PA	SUN	APA	8PA
8:0	0	0	33.3	0	0	0
14:0	0.4	0	0	0	0	0
16:0	15.0	33.3	33.3	0.9	100.0	100.0
18:0	6.4	0	0	0	0	0
18:1 n-9	14.3	0	0	12.4	0	0
18:2 n-6	25.1	0	0	36.0	0	0
18:3 n-6	2.2	0	0	2.7	0	0
20:0	0.5	0	0	0.5	0	0
20:3 n-6	3.1	0	0	3.6	0	0
20:4 n-6	27.1	66.7	33.4	36.5	0	0
22:0	2.0	0	0	1.3	0	0
24:0	3.9	0	0	6.1	0	0

Fatty acids are indicated as (number of carbon atoms: number of double bonds) and are represented as: 16:0 palmitic acid, 18:0 stearic acid, 18:1 n-9 oleic acid, 18:2 n-6 linoleic acid, 18:3 n-6 γ-linolenic acid, 20:3 n-6 dihomo-γ-linolenic acid, 20:4 n-6 arachidonic acid.

[0068] After fasting the animals for 10 to 12 hours, on the 18th day of dosing, blood samples were collected, and the liver and lungs were excised (and stored at -80°C until analysis). The fatty acid compositions of plasma and liver were affected by fatty acids present in the formulas and when the formula groups were compared, although the arachidonic acid contents of the SUN, APA and 8PA groups were higher, there were no significant differences observed between these groups with respect to arachidonic acid content. This is believed to be because the tissues used were directly affected by dietary fatty acids. Therefore, the fatty acid composition of phospholipid in the lungs was analyzed. Those results are shown in Table 3.

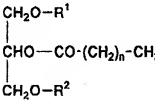
Table 3

Fatty Acid	Fatty Acid composition of Lung Phospholipid			
	Formula Group	SUN Group	APA Group	8PA Group
16:0	31.0±0.5	29.2±0.3	30.3±0.4	32.7±0.5
18:0	13.4±0.2	13.2±0.3	11.6±0.5	12.5±0.4
18:1 n-9	23.7±0.5	23.0±0.2	22.8±0.4	23.1±0.3
18:2 n-6	12.1±0.3	12.7±0.2	12.4±0.3	12.6±0.2
20:4 n-6	8.1±0.2	9.1±0.1	10.5±0.3	10.2±0.2
22:5 n-3	2.2±0.1	2.1±0.1	2.4±0.2	1.9±0.1
22:6 n-3	0.8±0.1	0.7±0.1	0.8±0.1	0.8±0.1

[0069] There were no significant differences in the proportions of arachidonic acid in the fatty acid composition of lung phospholipid. The proportion of arachidonic acid among lung phospholipids in the SUN group can be predicted to be higher than in the formula group. However, despite containing the same amount of arachidonic acid, the proportions of arachidonic acid among lung phospholipids in the APA and 8PA groups were significantly higher than in the SUN group. This result is considered to be due to the positional characteristics of the structured lipid triglyceride of the present invention.

Claims

1. A triglyceride represented by the following general formula (I):

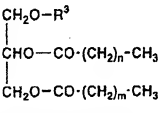


(I)

wherein R^1 and R^2 are acyl groups of unsaturated fatty acids having 18 to 22 carbon atoms, these acyl groups may be oxidized, and n represents an integer of 14 to 16, wherein at least one of R^1 and R^2 is a ω6, ω9 or ω3-unsaturated fatty acid.

2. A triglyceride according to Claim 1, wherein the acyl group of R^1 and the acyl group of R^2 are different.

3. A triglyceride represented with the following general formula (II):



(II)

wherein R^3 represents an acyl group of an ω6, ω9 or ω3-unsaturated fatty acid having 18 to 22 carbon atoms, this acyl group may be oxidized, n represents an integer of 14-16, and m represents an integer of 2-16.

4. A triglyceride as set forth in claim 1, 2 or 3, wherein the oxidized acyl group is a hydroxylated, epoxidated or hydroxyepoxidated acyl group.

5. A triglyceride as set forth in claim 1, 2 or 3, wherein the unsaturated fatty acid having 18 to 22 carbon atoms is an unsaturated fatty acid selected from the group consisting of:

9,12-octadecadienoic acid (linoleic acid) 18:2, ω6
6,9,12-octadecatrienoic acid (γ-linolenic acid) 18:3, ω6
8,11,14-eicosatrienoic acid (dihomo-γ-linolenic acid) 20:3 ω6
5,8,11,14-eicosatetraenoic acid (arachidonic acid) 20:4, ω6
7,10,13,16-docosatetraenoic acid 22:4, ω6
4,7,10,13,16-docosapentaenoic acid 22:5, ω6
6,9-octadecadienoic acid 18:2, ω9
8,11-eicosadienoic acid 20:2, ω9
5,8,11-eicosatrienoic acid (Mead acid) 20:3, ω9
9,12,15-octadecatrienoic acid (α-linolenic acid) 18:3, ω3
6,9,12,15-octadecatetraenoic acid (stearidonic acid) 18:4, ω3

11,14,17-eicosatrienoic acid (dihomo-α-linolenic acid) 20:3, ω3
8,11,14,17-eicosatetraenoic acid 20:4, ω3
5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid 20:5, ω3
7,10,13,16,19-docosapentaenoic acid 22:5, ω3, and
4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid 22:6, ω3.

6. A triglyceride as set forth in claim 1, 2 or 3 selected from the group consisting of the following triglycerides:

1,3-diarachidonyl-2-palmitoyl triglyceride,
1-arachidonyl-3-docosahexaenoyl-2-palmitoyl triglyceride,
1-arachidonyl-3-octanoyl-2-palmitoyl triglyceride,
1,3-didocosahexaenoyl-2-palmitoyl triglyceride,
1-(dihomo-γ-linolenyl)-3-docosahexaenoyl-2-palmitoyl triglyceride,
1-docosahexaenoyl-3-octanoyl-2-palmitoyl triglyceride,
1-arachidonyl-3-(dihomo-γ-linolenyl)-2-palmitoyl triglyceride,
1-(dihomo-γ-linolenyl)-3-octanoyl-2-palmitoyl triglyceride,
1,3-bis(dihomo-γ-linolenyl)-2-palmitoyl triglyceride,
1,3-bis(5,8,11-eicosatrienoyl)-2-palmitoyl triglyceride,
1-(5,8,11-eicosatrienoyl)-3-octanoyl-2-palmitoyl triglyceride,
1-arachidonyl-3-(5,8,11-eicosatrienoyl)-2-palmitoyl triglyceride, and
1-docosahexaenoyl-3-(5,8,11-eicosatrienoyl)-2-palmitoyl triglyceride.

7. A food composition containing a triglyceride as set forth in any one of claims 1 through 6 according to special nutritional requirements.

8. A food composition as set forth in claim 7, wherein said food composition is a functional food, nutritional supplement food, premature infant formula, infant formula, baby food, pregnancy food or elderly food.

9. An animal feed containing a triglyceride as set forth in any of claims 1 through 6. .

10. A therapeutic nutritional product containing at least one type of triglyceride as set forth in any one of claims 1 through 6 and a neutral carrier suitable for oral, intraintestinal or parenteral administration depending on the case.

11. A pharmaceutical composition containing at least one type of triglyceride as set forth in any of claims 1 through 6.

12. An analytical standard reagent comprising a triglyceride as set forth in any of claims 1 through 6.

European Patent Office

EUROPEAN SEARCH REPORT

Application Number
EP 99 30 4789

DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages	Relevant to claim	CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int.Cl.6)
X	YASUSHI ENDO ET AL.: "Oxidation of Synthetic Triacylglycerols Containing Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids: Effect of Oxidation System and Triacylglycerol Structure" JOURNAL OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY., vol. 74, no. 9, September 1997 (1997-09), pages 1041-1045, XP002115481 AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. CHAMPAIGN., US ISSN: 0003-021X * page 1042, left-hand column, paragraph 1 * * scheme 1 * * page 1042 * ---	1,3-6	C07C69/587 A61K31/23 A23L1/30 A23D9/00
X	B.F.DAUBERT: "Unsaturated Sybthetic Glycerides. VIII. Unsymmetrical Mixed Triglycerides Containing Linoleic Acid" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY., vol. 66, no. 9, 8 September 1944 (1944-09-08), pages 1507-1509, XP002115482 AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC., US ISSN: 0002-7863 * page 1508; table 1 * --- -/--	3,5	TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int.Cl.6) C07C A61K A23L A23D

The present search report has been drawn up for all claims

Place of search	Date of completion of the search	Examiner
THE HAGUE	16 September 1999	Kinzinger, J

CATEGORY OF CITED DOCUMENTS

X : particularly relevant if taken alone
Y : particularly relevant if combined with another document of the same category
A : technological background
O : non-written disclosure
P : intermediate document

T : theory or principle underlying the invention
E : earlier patent document, but published on, or after the filing date
D : document cited in the application
L : document cited for other reasons

& : member of the same patent family, corresponding document

EPO FORM 1503 03.82 (P04C01)

European Patent Office

EUROPEAN SEARCH REPORT

Application Number
EP 99 30 4789

DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document with indication, where appropriate, of relevant passages	Relevant to claim	CLASSIFICATION OF THE APPLICATION (Int.Cl.6)
X	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 113, no. 17, 22 October 1990 (1990-10-22) Columbus, Ohio, US; abstract no. 147859x, MIYASHITA KASUO ET AL.: "Preferential hydrolysis of monohydroperoxides of linoleoyl and linolenoyl triacylglycerol by pancreatic lipase" page 336; column 1; XP002115483 * abstract * * RN= 116229-50-6, octadeca-9,12,15-trienoic acic 2-hexadecanoyloxy-3-octadeca-9,12,15-trienyloxy-propylester * & MIYASHITA KAZUO ET AL.: BIOCHIM.BIOPHYS.ACTA, vol. 1045, no. 3, 1990, pages 233-238,	1,5	
A	EP 0 265 699 A (NISHIN OIL MILLS, LTD) 4 May 1988 (1988-05-04) * page 9; claims *	1	TECHNICAL FIELDS SEARCHED (Int.Cl.6)

The present search report has been drawn up for all claims

Place of search	Date of completion of the search	Examiner
THE HAGUE	16 September 1999	Kinzinger, J

CATEGORY OF CITED DOCUMENTS

X : particularly relevant if taken alone
Y : particularly relevant if combined with another document of the same category
A : technological background
O : non-written disclosure
P : intermediate document

T : theory or principle underlying the invention
E : earlier patent document, but published on, or after the filing date
D : document cited in the application
L : document cited for other reasons

& : member of the same patent family, corresponding document

EPO FORM 1503 03.82 (P04C01)

ANNEX TO THE EUROPEAN SEARCH REPORT ON EUROPEAN PATENT APPLICATION NO. EP 99 30 4789

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned European search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

16-09-1999

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 265699 A	04-05-1988	JP 1728708 C	29-01-1993
		JP 4012920 B	06-03-1992
		JP 63087988 A	19-04-1988
		DE 3787503 D	28-10-1993
		DE 3787503 T	11-05-1994
		US 5227403 A	13-07-1993

EPO FORM P0459

For more details about this annex : see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/82